

# Verificação da atividade cicatrizante do exudato de folhas de *Jatropha multifida* L.

## Wound healing exudates leaves evaluation from *Jatropha multifida* L.

Daniela Regina Buch<sup>1</sup>, Angela Bonjorno Arantes<sup>2</sup> & Patrícia Maria Stuelp Campelo<sup>3</sup>

**RESUMO** – A *Jatropha multifida* L. (Euphorbiaceae), conhecida pelos nomes vulgares flor-de-coral ou flor-de-sangue, vem sendo utilizada popularmente como cicatrizante. O objetivo do trabalho foi verificar essa atividade utilizando o exudato obtido a partir de suas folhas aplicado localmente sobre lesões induzidas em ratos. Os animais foram anestesiados, tricotomizados, sendo em seguida realizada a lesão circular. Os ratos foram então divididos em: controle negativo (animais sem tratamento); controle positivo (animais tratados com gluconato de clorhexidina) e em grupo teste (animais tratados com o exudato da planta). Em diferentes tempos (3, 7, 14 e 21 dias pós-operatório), os animais foram eutanasiados e a lesão foi removida para análise histológica. Macroscopicamente, a partir do 14º dia as lesões do grupo teste possuíam crostas mais secas e de menor diâmetro em relação aos demais grupos. A análise histológica demonstrou que o grupo teste apresentou uma troca maior de células polimorfonucleares por mononucleares, sendo particularmente mais evidente no 14º dia. Dessa forma, conclui-se que o exudato de *Jatropha multifida* L. apresentou uma tendência em acelerar o processo de cicatrização, porém, mais estudos deverão ser realizados para desvendar o mecanismo de melhora da ação cicatrizante ocasionado pela planta.

**PALAVRAS-CHAVE** – Cicatrização, *Jatropha multifida* L., infiltrado inflamatório.

**SUMMARY** – The *Jatropha multifida* L. (Euphorbiaceae), known by the popular names such as “flor-de-coral” and “flor-de-sangue” has been popularly used as a wound healing plant. This study evaluated this activity using leaves’ exudates on injuries made in rats. The animals were anaesthetized; shaven in the dorsal region and the injury was realized. The groups (negative control, positive control treated with chlorhexidine gluconate and test group) were evaluated in the 3, 7, 14, 21 days after the surgery. The wounds in the test group showed a drier crust and a smaller diameter comparing to the other groups in the 14th day. The histological analysis pointed out that the test group presented a greater maturing process in the wounded area. Therefore, the *Jatropha multifida* L. exudates presented a tendency to accelerate the wound healing process; however more studies must be made to develop the plant action.

**KEYWORDS** – Healing process, *Jatropha multifida* L, inflammatory infiltrate.

## INTRODUÇÃO

As plantas constituem uma fonte importante de produtos naturais biologicamente ativos, muitos dos quais se constituem em modelos para a síntese de um grande número de fármacos. Pesquisadores da área de produtos naturais mostram-se impressionados pelo fato desses produtos, encontrados na natureza, revelarem uma gama quase inacreditável de diversidade em termos de estrutura e de propriedades físico-químicas e biológicas. Apesar do aumento de estudos nessa área, os dados disponíveis revelam que apenas de 15 a 17% das plantas foram estudadas quanto ao seu potencial medicinal (Simões, 2004).

O conhecimento sobre plantas medicinais simboliza muitas vezes, o único recurso terapêutico de muitas comunidades e grupos étnicos. De maneira direta e indireta, esse tipo de cultura medicinal desperta o interesse de pesquisadores em estudos envolvendo áreas

multidisciplinares, tais como, botânica, farmacologia e fitoquímica, que enriquecem os conhecimentos sobre a inesgotável fonte medicinal natural (Maciel *et al.*, 2002).

No contexto histórico a medicina popular contribui com inúmeras descobertas que devem sempre ser respaldadas pelo conhecimento científico, contribuindo para o uso racional de espécies medicinais e a conscientização quanto a sua toxicidade. Através de diferentes métodos, as plantas são transformadas em medicamentos e ao serem utilizadas como tal, deve-se dar atenção às plantas consideradas tóxicas, ou seja, àquelas que podem provocar a morte ou paralisia de um animal, doenças em crianças, náuseas ou perda de memória em adultos ou qualquer outro efeito nocivo e indesejado. Mesmo estas devem ser estudadas, pois podem conter princípios medicamentosos importantes, devendo determinar sua dose efetiva (Gonsalves, 1997, Barg, 2004).

Recebido em 25/11/2007

<sup>1</sup>Graduanda do Curso de Farmácia, PUC/PR

<sup>2</sup>Farmacêutica-Bioquímica, Mestre em Ciências Farmacêuticas, Professora de Tecnologia de Cosméticos, PUC/PR

<sup>3</sup>Farmacêutica-Bioquímica, Doutora em Bioquímica, Professora de Bioquímica, PUC/PR

Rua Imaculada Conceição 1155, Bairro Prado Velho, Curitiba, PR

## MATERIAIS E MÉTODOS

Um exemplo disso é a planta *Jatropha multifida* L. (Jm), cujo exudato da folha tem sido usado na medicina popular para o tratamento de lesões e feridas infectadas. A *Jatropha multifida* L. (Jm) pertence a família Euphorbiaceae e é conhecida pelos nomes vulgares de flor-de-coral, coral, coral-dos-jardins, flor-de-sangue. Em Santa Catarina é encontrada apenas como planta cultivada e como planta ornamental (Smith; Downs; Klein; 1998). As flores são muito pequenas, de cor vermelho-brilhantes, e agrupadas em cachos; a folha tem de 10 a 20cm de largura e divididas em segmentos ou lóbulos estreitos, afilados, longos e podem ter as extremidades lisas ou dentadas; os frutos são amarelos e normalmente contém três sementes. Apresenta seiva abundante leitosa ou incolor e o contato com ela pode causar dermatite (*Queensland Government*).

Em um estudo realizado com extrato de raiz da Jm foi demonstrada a inibição de infecções causadas por *B. subtilis* e *S. aureus* em concentrações de 200µg/disco (Aiyelaagbe, 2001) e também foram encontradas substâncias imunomoduladoras e tóxicas na composição de seu exudato e sementes, respectivamente (Samlipto; Willem; Rudi, 1989, Levin *et al.*, 2000).

Segundo moradores do noroeste do estado do Paraná, das cidades de Jesuítas e Bandeirantes, a Jm tem sido utilizada com a finalidade de cicatrizar feridas, sendo conhecida vulgarmente na região como bálsamo ou methiolate. A seiva incolor proveniente da folha é aplicada diretamente sobre a lesão e em alguns casos é ingerida para tratamento de úlceras gastrointestinais.

O processo de cicatrização é definido como a substituição de um tecido lesado por tecido conjuntivo vascularizado. Para reparar um dano ocorrido na pele, o organismo sempre age da mesma maneira, passando pelas etapas de coagulação, inflamação, reconstrução e contração (Saviato; Silva, 2004). Segundo Dealey (2001), podem-se ter dois tipos de cicatrização: por primeira intenção, que ocorre quando não há perda de tecido e as extremidades da pele ficam justapostas uma à outra, como nas suturas cirúrgicas; ou por segunda intenção, que ocorre quando houve perda de tecido e as extremidades da pele ficam distantes umas das outras. Segundo Saviato e Silva (2004) tem-se ainda a terceira intenção, que é uma combinação das outras duas, com lentidão no fechamento primário devido à inicialização da cicatrização por segunda intenção.

Nos processos cicatriciais, a formação do tecido de granulação e a epitelização sempre motivou estudos com a finalidade de esclarecer aspectos da neoformação tecidual, como também para verificar os efeitos de medicação sistêmica ou tópica na evolução deste processo, sendo este fundamental, pois sem ele a lesão seria um caminho para os microorganismos e para a perda de sangue (Robbins *et al.*, 2000). Com relação às medicações tópicas, há uma série de trabalhos com o objetivo de se acelerar a cicatrização por segunda intenção, sendo que alguns autores julgam que a interferência na cicatrização deve-se à infecção e a perda de proteínas para a produção de novos tecidos (Carvalho; Oliveira, 1990).

Dessa forma, o objetivo deste estudo foi verificar a atividade cicatrizante do exudato obtido a partir de rasuras das folhas da *Jatropha multifida* aplicado localmente sobre lesões induzidas em ratos.

### 1) Obtenção da planta

Mudas de Jm foram trazidas da cidade de Jesuítas, no noroeste do estado (24° 22' 54.9" Sul e 53° 22' 33.5" Oeste), e foi cultivada em vasos, em local iluminado, longe da umidade, no município de Curitiba, PR. A confirmação da espécie e família da planta cultivada foi realizada pelo Herbarium da UFPR, cuja exsicata da planta está depositada sob registro nº 18415.

### 2) Preparo dos animais e realização da lesão

Utilizou-se 36 ratos Wistar machos, com massa corpórea média de 250g, procedentes do Biotério da PUCPR, que foram anestesiados ip com cloridrato de quetamina (100mg/kg) e xilazina (16mg/kg) para tricotomia e realização da lesão circular de 12mm de diâmetro, utilizando um "punch" (instrumento perfurante para punção de biópsia de pele) (Fujita *et al.*, 2003).

### 3) Tratamento das lesões

Os animais foram divididos em três grupos: controle negativo, sem tratamento; controle positivo, tratados com digluconato de clorexidina, e teste, tratado com exudato da Jm, obtido a partir da rasura das folhas e pecíolos frescos. Os animais foram mantidos em gaiolas individuais, com temperatura ambiente e obedecendo a períodos de claro e de escuro, com ração e água *ad libitum*. Nos dias 3, 7, 14, 21 pós-operatório cada grupo teve três animais eutanasiados e para proceder a retirada dos fragmentos das lesões para análise histológica. Esse trabalho foi realizado após aprovação do Comitê de Ética em pesquisa com animais da PUC/PR, sob registro nº 207, parecer nº 26.07/CEUA- PUC/PR.

### 4) Processamento histológico

Os fragmentos de tecido foram removidos por meio de incisões retangulares, aprofundadas até a região muscular e envolvendo toda a ferida, mantendo-se uma margem de um cm nas bordas. Esse material foi fixado em formalina 10%, e as lâminas histológicas foram preparadas no laboratório de patologia experimental da PUC/PR. As peças foram seccionadas transversalmente seguindo o sentido da pele para o tecido conjuntivo, desidratada em álcool, diafanizadas em xilol e incluídas em parafina sob a forma de blocos. Em seguida, foram cortadas em micrótomo, montadas sobre uma lâmina de vidro, fixadas e coradas utilizando a coloração dupla hematoxilina e eosina (HE). A visualização e análise das células foi realizada por microscopia óptica, utilizando-se um microscópio da marca Nikon, modelo Alphaphot-2 YS2.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os grupos foram observados clinicamente, sendo as feridas medidas com régua, em milímetros, após 3, 7, 14, 21 dias pós-operatórios e os resultados estão mostrados na **Tabela I**.

Ao analisar a **Tabela I**, percebe-se que ao término de 21 dias todas as lesões haviam cicatrizado. Nota-se que aparentemente existe uma diferença entre os grupos no decorrer do experimento, sendo que no 14º dia, as lesões do grupo teste eram menores e melhor cicatrizadas que nos outros grupos. Resultado semelhante foi observado por Driessen *et al.* (2003) e Marchini,

**TABELA I**  
Média das medidas das lesões dos animais nos grupos teste e controles, nos diferentes dias pós-operatórios

Dias	Grupo Teste (mm)	Controle Positivo (mm)	Controle Negativo (mm)
3	10,6 ± 0,5	11,3 ± 0,5	11,6 ± 0,5
7	7,3 ± 1,5	8,3 ± 1,5	9,0 ± 1,0
14	1,3 ± 0,5	3,0 ± 1,0	4,0 ± 1,0
21	0	0	0

Obs.: as medidas foram feitas a partir do diâmetro das lesões. Os valores correspondem a média aritmética ± desvio padrão da medida de 3 animais de cada grupo.

**TABELA II**  
Classificação e quantificação das células inflamatórias presentes nas amostras teciduais das lesões dos animais tratados ou não com exudato de *Jatropha multifida* L.

	3º Dia (%)		7º Dia (%)		14º Dia (%)		21º Dia (%)	
	PMN	MN	PMN	MN	PMN	MN	PMN	MN
T	80,5±9	19,5±9	22,2±6,1	77,7±6,1	3,7±3,8	96,2±3,8	1,0±1,1	99±1,1
CP	79,0±9,3	21,0±9,3	21,7±12,4	78,7±12,4	25,0±21,6	75,0±21,6	1,5±0,5	98,5±0,5
CN	93,7±9,4	6,2±9,4	29,7±22,7	70,2±22,7	21,6±3,7	78,3±3,7	8,3±3,7	91,6±3,7

PMN: células polimorfonucleares; MN: células mononucleares; Realizou-se a contagem de 100 células na base da ulceração. Controle positivo (CP): grupo tratado com Digluconato de Clorhexidina; controle negativo (CN): grupo sem tratamento; teste (T): grupo tratado com exudato de *Jatropha multifida* L.

Martins e Simões (1988), que avaliaram a ação cicatrizante do extrato das folhas da Hera e de óleo de rosa mosqueta, respectivamente e também observaram nítida diferença entre os grupos controle e teste aos 14 dias pós-operatório.

A observação macroscópica diária das lesões demonstrou que nos primeiros dias do experimento já era possível observar que aquelas dos animais tratados com o exudato da Jm apresentavam crosta mais seca, resistente e brilhante em relação aos outros grupos, em que as crostas apresentavam-se foscas, sem resistência e a lesão apresentava-se mais profunda em relação ao epitélio normal. Ainda, observou-se no grupo controle negativo pequena infecção nas bordas da crosta, evidenciada pela formação de pus.

Aos 9 dias de evolução, observou-se que todos os animais do grupo teste não apresentam mais crosta, porém todos os animais dos demais grupos ainda a possuíam. No 18º dia pós-operatório, todos os animais do grupo teste apresentavam as lesões completamente cicatrizadas enquanto nos outros grupos alguns animais ainda apresentavam lesões não cicatrizadas (dados não mostrados).

As lesões também foram avaliadas microscopicamente com relação ao estágio de inflamação no local da área tratada. Percebeu-se que houve um prolongamento desta reação ao longo do experimento, provavelmente devido ao tipo de le-

são realizada. A utilização do "punch" provoca uma perda tecidual significativa, levando então à cicatrização de segunda intenção. Segundo Robbins *et al.* (2000), nos grandes defeitos teciduais é verificada quantidade maior de restos necróticos e exsudatos a serem removidos, por consequência a reação inflamatória é mais intensa e prolongada. Portanto, realizou-se a contagem de cem células inflamatórias presentes na lesão sob a crosta, classificando-as como polimorfonucleares (PMN) ou mononucleares (MN), e estabelecendo-se uma comparação entre os grupos em um mesmo período de tempo. Estes resultados podem ser observados na **Tabela II** e na **Figura 1**, sendo evidenciado o 3º (1ª coluna) e 14º dias (2ª coluna) de pós-operatório do teste (A e B), controle positivo (C e D) e controle negativo (E e F).

Como era de se esperar, no 3º dia pós-operatório a intensidade do processo inflamatório agudo foi grande em todos os grupos, principalmente no controle negativo, caracterizado pela presença predominante de células polimorfonucleares. O teste apresentou reação inflamatória muito semelhante ao controle positivo, que utilizou clorexidina, uma droga empregada pela clínica médica por desinfetar a lesão, mantendo-a livre de contaminação microbiana e facilitando a cicatrização. A resposta inicial pelos tecidos é denominada inflamação

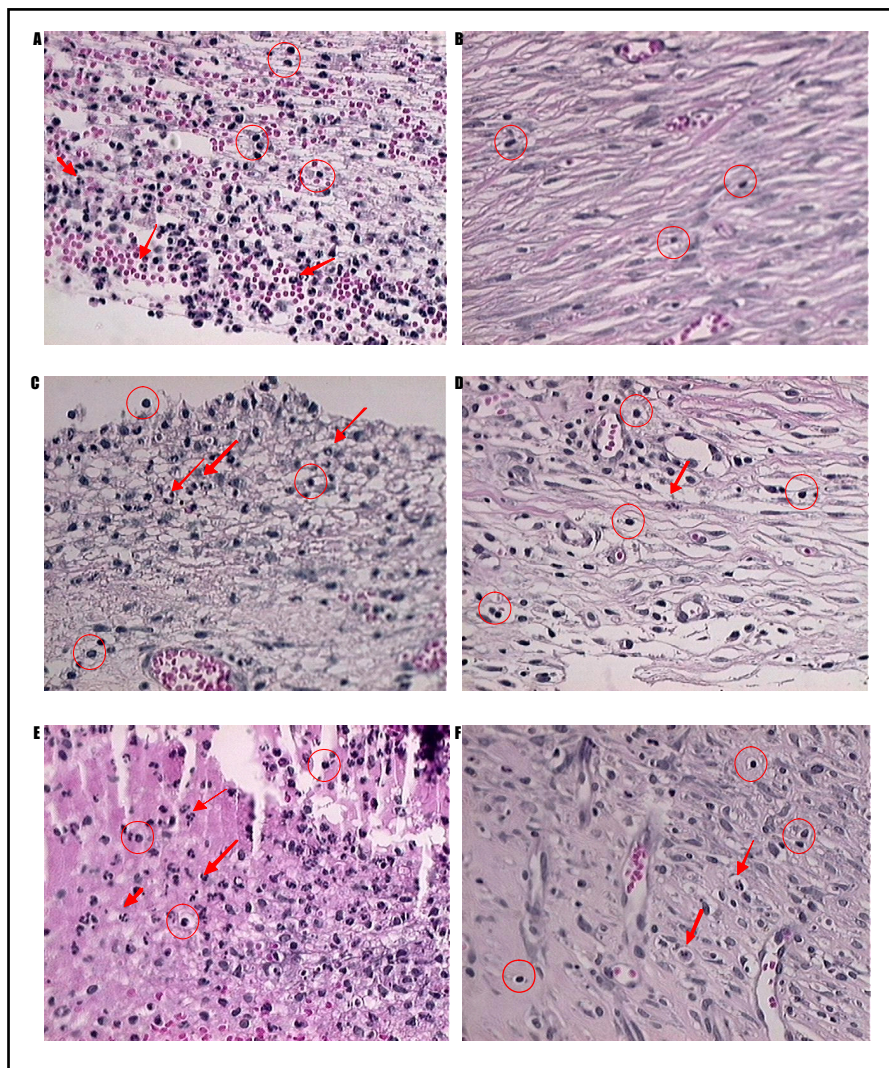


FIG. 1- Fotomicrografia da lesão no 3º (1ª coluna) e 14º dias pós-operatório do grupo teste (A e B), controle positivo (C e D) e controle negativo (E e F), evidenciando a inflamação aguda. Nos círculos observam-se células mononucleares e na flechas, células polimorfonucleares. Coloração HE, aumento de 40x.

aguda ou reação inflamatória aguda. O exudato inflamatório agudo é constituído de muitos neutrófilos, poucos macrófagos, que são células fagocíticas derivadas dos monócitos sanguíneos, e alguns linfócitos, sendo uma resposta relativamente inespecífica, e suas funções mais importantes são eliminar os tecidos mortos, proteger contra infecção local e permitir o acesso do sistema imune à área danificada.

A partir do 7º dia, a diferença entre os grupos apresenta-se de forma discreta, sendo que todos os grupos já apresentam inflamação crônica, ou seja, predominância de células mononucleares e plasmócitos. Percebe-se, no entanto, que o teste apresenta um amadurecimento do infiltrado inflamatório no 14º dia pós-operatório muito evidente quando comparado com os outros grupos, o que pode ser de fundamental importância para a aceleração do processo de cicatrização observado macroscopicamente, que pode ser devido a um controle da infecção bacteriana na lesão.

A inflamação crônica é um processo que ocorre quando o estímulo agressor persiste com destruição contínua dos tecidos e tentativas de cicatrização por reparo fibroso (Stevens; Lowe, 1998). Um componente secundário do exudato inflamatório é constituído por macrófagos, que migram para a área lesada posteriormente aos neutrófilos. Estas células estão presentes em quantidade muito reduzida na fase da inflamação aguda, mas, com o tempo, aumentam em número, auxiliando na eliminação do material destruído. Além de sua função fagocítica, os macrófagos possuem papel secretor, produzindo fatores de crescimento e citocinas responsáveis por alguns dos eventos da resposta inflamatória, e também auxiliam no reparo ao dano tecidual.

A inflamação aguda apresenta um papel importantíssimo contra o dano e a destruição dos tecidos, porém a prevalência dos neutrófilos por um longo período de tempo acaba desacelerando o processo de reparo tecidual. Quanto mais contaminada uma lesão mais neutrófilos serão atraídos ao local e maior será o tempo de combate, por este motivo, a maioria dos medicamentos utilizados para acelerar o processo de cicatrização visa combater os microorganismos invasores e assim facilitar a cicatrização. Dessa forma, a troca mais prematura dos polimorfonucleares por mononucleares no teste pode ser indicativa de um controle microbiano na lesão ocasionado pelo exudato de Jm. Esse efeito também é atribuído ao clorhexidine, que é uma droga muito utilizada na fase pós-cirúrgica bucal por promover um controle químico de formação de placa bacteriana, sendo eficiente no controle de formação do biofilme supra gengival (Pucher; Daniel, 1992). Estudos em animais e estudos clínicos em humanos demonstraram que ela também apresenta uma ação eficaz no processo de reparação tecidual, em virtude principalmente de sua propriedade antibacteriana (Cavalcanti *et al.*, 2005).

Dessa forma, conclui-se neste estudo que as observações clínicas vêm se somar aos resultados histológicos, demonstrando que o exudato de *Jatropha multifida* L. apresentou uma tendência em acelerar o processo de cicatrização, sempre apresentando medidas das lesões menores do que os outros grupos, o que ajuda a diminuir o risco de contaminação bacteriana da lesão, o que deve promover uma menor atração de polimorfonucleares e um amadurecimento inflamatório mais acentuado, principalmente em relação ao controle negativo. Seguindo esta linha, o estudo da ação antibacteriana deste exu-

dato se torna interessante. Outra possibilidade para esta tendência em acelerar o processo de cicatrização seja pelo fato do exudato formar uma barreira mecânica à contaminação bacteriana ao invés de possuir ação antibacteriana, pois com a aplicação diária deste exudato houve a formação de um filme protetor, por este motivo não se pode descartar a idéia do exudato ter contribuído por ser um cicatrizante físico e não químico. Será, portanto, necessária a realização de mais e novos testes e avaliações histológicas mais minuciosas para se concluir as observações deste trabalho. Além disso, convém também ressaltar a importância de uma avaliação química do exudato da *Jatropha multifida* L., pois é de grande importância saber com quais componentes se está trabalhando e em que proporções.

## AGRADECIMENTOS

Aos técnicos do laboratório José Maurício Barbosa, Cleide M. de B. Zeglan e ao acadêmico Guilherme Wambier pelo auxílio com os experimentos animais, às biólogas Ana Paula C. Martins e Marina L. V. Azevedo do Laboratório de Patologia Experimental pela confecção das lâminas e à Prof<sup>ª</sup>. Lúcia de Noronha pelo auxílio com a análise das lâminas histológicas. Ao zootecnista Rafael Zotz e aos funcionários do Biotério da PUCPR pela ajuda na manutenção dos animais e da planta.

## REFERÊNCIAS

1. Aiyelaagbe, O.O. Antibacterial activity of *Jatropha multifida* roots. *Fitoterapia*, Ibadan (Nigéria), v. 72, nº 5, p. 544-6, Jun., 2001.
2. Barg, G.B. Plantas Tóxicas. Curso de Fitoterapia, IBGE, p. 19, 2004.
3. Carvalho, P.S.P.; Oliveira, G.M. Cicatrização cutânea após aplicação tópica de nebacetin e gingilone em feridas infectadas, estudo clínico e histológico em ratos. *Revista Odontologia UNESP*, v. 19, nº 1, p. 75-84, 1990.
4. Dealey, C. Cuidando de feridas: Um guia para enfermeiras. São Paulo: Atheneu 2001.
5. Driessen, C.; Santos, T.M.; Lima, A.A.S.; Elíffio, S.L.; Pereira, L.F. Estudo da reparação tecidual em ratos de feridas cutâneas tratadas com extrato de hera (*Hedera helix* L.). *Estudos de Biologia*, Curitiba, v. 25, nº 50, p. 29-34, 2003.
6. Fujita, N.; Sakaguchi, I.; Kobayashi, H.; Ikeda, N.; Kato, Y.; Minamino, M.; Ishii, M. An extract of the root of *Lythospermum erythrorhizon* accelerates wound healing in diabetic mice. *Biol. Pharm. Bull.*, Japan, v. 26, nº 3, p. 329-335, 2003.
7. Gonsalves, P.E. Medicinas Alternativas: os tratamentos não convencionais. 2ª ed. São Paulo: IBRASA, 1997.
8. Levin, Y.; Sherer, Y.; Bibi, H.; Schlesinger, M.; Hay, E. Rare *Jatropha multifida* intoxication in two children. *J Emerg Med. Ashkelon (Israel)*, v. 19, nº 2, p. 173-5, 2000.
9. Maciel, M.A.M.; Pinto, A.C.; Veiga, V.F.; Grynberg, N.F.; Echevarria, A. Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. *Quim Nova*, Rio de Janeiro, v. 25, nº 3, p. 429-438, 2002.
10. Marchini, F.B.; Martins, D.M.F.S.; Simões, D.C.T.M.J. Efeito do óleo de rosa mosqueta na cicatrização de feridas abertas. *Rev. Paul. Med.*, v. 106, nº 6, p. 356, Dez, 1988.
11. Cavalcanti, A.T.N.; Arruda, T.E.P.; Arruda, T.T.P.; Pereira S.L.S.; Turatti, E. Análise comparativa entre o óleo-resina de copaíba e o digluconato de clorexidina no processo de cicatrização tecidual. Estudo histológico em dorso de ratos. *Revista de Odontologia da UNESP*, v. 34, nº 2, p. 107-112, 2005.
12. Pucher, J.J.; Daniel, J.C. The effects of chlorhexidine digluconate on human fibroblasts in vitro. *J Periodontol*, v. 63, p. 526-32, 1992.
13. Queensland Government. Plants and Mushrooms. Disponível em: <[http://www.health.qld.gov.au/poisonsinformationcentre/plants\\_fungi/coralplant.asp](http://www.health.qld.gov.au/poisonsinformationcentre/plants_fungi/coralplant.asp)> Acesso em 13 mar. 2006.
14. Robbins, S.L.; Cotran, R.S.; Kumar, V.; Collins, T. Robbins Patologia estrutural e funcional. 6ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara/Koogan, 2000.
15. Samlipto, K.; Willem, G.; Rudi, P.L. Multifidol and multifidol glucoside from the latex of *Jatropha multifida*. *Phytochemistry*, v. 28, nº 9, p. 2439 - 2441, 1989.
16. Savieto, R.M.; Silva, M.J.P. Toque terapêutico na cicatrização de lesões da pele de cobaias. *Revista Brasileira de Enfermagem*, v. 57, nº 3, p. 340-343, Maio, 2004.
17. Simões, C.M.O. Farmacognosia: da planta ao medicamento. 5ª ed. Florianópolis: UFSC, 2004.
18. Smith, L.B.; Downs, R.S.; Klein, R.M. Flora Ilustrada Catarinense. Itajaí: 1988. 265-266 p.
19. Stevens, A.; Lowe, J.S. Patologia. 2ª ed. São Paulo: Manole, 1998.

### Endereços eletrônicos

Daniela Regina Buchi - e-mail: d\_buchi@ibest.com.br  
Angela Bonjorno Arantes - e-mail: angela.arantes@pucpr.br  
Patrícia Maria Stuelp Campelo - e-mail: p.campelo@pucpr.br